Aus dem Physiologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. E. B a u e r e i s e n

# DIE AKTIVIERUNG DER GEFÄSSMUSKULATUR DURCH CATECHOLAMINE UND OLIGOPEPTIDE VOR UND NACH BLOCKADE DER ALPHA - REZEPTOREN

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Bernd Glaser
aus Berlin
1o. Dezember 1971

1972

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. E. B a u e r e i s e n

# DIE AKTIVIERUNG DER GEFÄSSMUSKULATUR DURCH CATECHOLAMINE UND OLIGOPEPTIDE VOR UND NACH BLOCKADE DER ALPHA - REZEPTOREN

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Bernd Glaser
aus Berlin
1o. Dezember 1971

Referent: Prof. Dr. U. Peiper

Korreferent: Prof. Dr. E. Bauereisen

Dekan: Prof. Dr. K.-H. Weis

Tag der mündlichen Prüfung: 16./ 17. Februar 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

# Inhaltsverzeichnis


A. EINLEITUNG 1

B. FRAGESTELLUNG 4

C. METHODIK 7

1. Herstellung eines Streifenpräparates 7

2. Inkubationsgefäß und Badflüssigkeit 8

3. Meßinstrumente und Registrierung 11

4. Benutzte Pharmaka 12

5. Berechnung der Präparatdehnung 15

6. Auswertung der Versuche 17

D. ERGEBNISSE 2o

I. Wirkung der Oligopeptide auf die Gefäßmuskulatur 2o

1. Dosis-Wirkungskurven von Vasopressin 2o

2. Einfluß von Phentolamin auf Form und Verlauf der Vasopressin-Dosis-Wirkungskurven 24

II. Wirkung der Catecholamine auf die Gefäßmuskulatur 28

1. Dosis-Wirkungskurven von Noradrenalin 28

2. Einfluß von Phentolamin auf Form und Verlauf von Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurven 32

E. DISKUSSION 35

F. ZUSAMMENFASSUNG 44

## A. Einleitung

Die Blutdruckhöhe im Organismus kann durch Änderung des Gefäßtonus, durch Beeinflussung der Förderleistung des Herzens oder durch Variation beider Faktoren reguliert werden. Eine Steuerfunktion übernehmen hierbei das medulläre Kreislaufzentrum, das Renin-Angiotensin-System, der Regelkreis zwischen Hypothalamus-Hypophyse-Nebenniere sowie Elektrolyte und Stoffwechselprodukte.

Das medulläre Kreislaufzentrum steuert die Gefäßweite über das von den postganglionären, sympathischen Nerven freigesetzte Noradrenalin und durch die von der Nebenniere ausgeschütteten Catecholamine. Vasoaktive Polypeptide bzw. Oligopeptide aus dem Renin-Angiotensin-System oder aus dem Hypothalamus gelangen auf humoralem Weg zu den Gefäßen.

Damit die vasoaktiven Substanzen an der Gefäßmuskulatur konstriktorisch wirken können, muß eine bestimmte Konzentration am Erfolgsorgan erzielt werden.

Für das Vasopressin soll der Plasmaspiegel beim Menschen zwischen o,2 und o,4 · $1o^{-6}$ IE/ml liegen ( SCRIBA und SCHWARZ 197o ). Die Konzentration der

Catecholamine im Plasma wird von KLENSCH ( 1966 ) für das Noradrenalin mit etwa $3 \cdot 10^{-10}$ g/ml angegeben. Bei Nervenreiz ist jedoch an der Gefäßmuskulatur ein wesentlich höherer Wert erreichbar, der von FOLKOW et al. ( 1967 ) sowie LJUNG ( 1968 ) zu etwa $10^{-6}$ bis $10^{-5}$ g/ml berechnet wurde.

Während die in situ auftretenden Noradrenalin-Konzentrationen eine vasokonstriktorische Wirkung ausüben, liegen die zur Auslösung einer Gefäßmuskelkontraktion notwendigen Vasopressin-Konzentrationen mit $1{,}25 \cdot 10^{-3}$ IE/ml ( HINKE et al. 1964 ) bzw. $1 - 1000 \cdot 10^{-3}$ IE/ml ( SOMLYO et al. 1965 ) wesentlich über dem oben angegebenen Plasmaspiegel.

Der Aktivierungsmechanismus durch diese Pharmaka an der Gefäßmuskulatur ist noch nicht eindeutig geklärt. Sicherlich besteht, ähnlich wie an der Skeletmuskulatur, eine Korrelation zwischen Stärke der Muskelkontraktion und intrazellulärer Calcium-Konzentration ( MURPHY et al. 1969 ).

Das freigesetzte Noradrenalin könnte durch Änderung des Membranpotentials den Kontraktionsprozeß in Gang setzen ( KEATINGE 1966 ). Andere Versuche zeigten jedoch, daß Noradrenalin auch am völlig depolarisierten Muskel noch eine Spannungsent-

wicklung bewirkte ( WAUGH 1962; JOHANSSON et al. 1967 ). Die durch Noradrenalin und die durch Membrandepolarisation bedingten Calcium-Freisetzungen werden als unterschiedliche Mechanismen angesehen ( HINKE et al. 1964; CUTHBERG und SUTTER 1965; HIRAOKA et al. 1968 ), über die Gefäßmuskelzellen zur Kontraktion gebracht werden.

Bei der Kontraktionsauslösung der Gefäßmuskulatur durch Oligopeptide ist ein weiterer Aktivierungsmechanismus beteiligt. Nach WALTER and BASSENGE ( 1969 ), MC NEILL et al. (197o ) u. a. sollen bei der Aktivierung durch das Oligopeptid Angiotensin die adrenergen alpha-Rezeptoren nicht beteiligt sein.

## B. Fragestellung

Die Gefäßmuskulatur kann unter anderem durch Catecholamine und Oligopeptide zur Kontraktion gebracht werden. Für eine qualitative Untersuchung und für den Vergleich beider Aktivierungsmechanismen sind standardisierte Bedingungen notwendig. An isolierten Aortenpräparaten von Ratten sollte daher die Spannungsentwicklung nach Noradrenalin und Vasopressin vor und nach Blockade der alpha-Rezeptoren miteinander verglichen werden. Änderungen im Verlauf und in der Form der Dosis-Wirkungskurven würden auf einen Unterschied zwischen Noradrenalin- und Vasopressin-Wirkung hinweisen.

Während für die Noradrenalin-Aktivierung an isolierten Präparaten bereits zahlreiche Untersuchungen vorliegen, sind unseres Wissens Dosis-Wirkungskurven von Vasopressin bisher nur an der A. pulmonalis des Huhnes ( SOMLYO et al. 1967 ) im Konzentrationsbereich von 1 - 1000 $\cdot$ $10^{-3}$ mE/ml veröffentlicht worden.

Durch eine Blockade der adrenergen alpha-Rezeptoren sollte die unterschiedliche Muskelaktivierung durch Noradrenalin und Vasopressin verdeut-

licht werden. Als blockierende Substanz wählten wir Phentolamin ( = Regitin ), da dieses Pharmakon mit den alpha-Rezeptoren reversibel reagiert, während Phenoxybenzamin ( = Dibenamin ) diese Rezeptoren irreversibel beeinflußt. Von LANGER und TRENDELENBURG ( 1969 ) wurde die Wirkung des Phentolamins gegenüber Noradrenalin an der Nickhaut der Katze im Sinne eines kompetitiven Antagonismus gedeutet.

Die Blockade der alpha-Rezeptoren führten wir einmal vor Aufnahme der Dosis-Wirkungskurve durch, d. h. bei inaktiviertem Gefäßstreifen; zum anderen erfolgte erst bei maximal adrenerg aktiviertem Muskelpräparat eine Blockade durch Phentolamin.

Entsprechende Untersuchungen wurden auch für die Vasopressin-Aktivierung durchgeführt. Von Versuchen anderer Autoren ( SHIBATA and CARRIER 1967; GULATI et al. 1968; WALTER and BASSENGE 1969 ) ist bekannt, daß die Wirkung des Oligopeptids Angiotensin ( = Hypertensin ) nicht durch Blockade der alpha-Rezeptoren verändert wird. Durch eine Phentolamin-Blockade der alpha-Rezeptoren sollte mittels Vasopressin-Dosis-Wirkungskurven untersucht werden, ob auch an dieser Aktivierungsform die adrenergen alpha-Rezeptoren ursächlich nicht beteiligt sind.

Bei wiederholter Aktivierung des Muskelpräparates durch Angiotensin zeigte sich im Gegensatz zum Noradrenalin eine erhebliche Wirkungsminderung als Zeichen einer Tachyphylaxie. Resultate dieser Art sind an isolierten Gefäßen ( KHAIRALLAH et al. 1966; BOHR und UCHIDA 1967; WALTER and BASSENGE 1969 ) wie auch an der Strombahn in situ ( LOUIS und JERUMS 1968 ) beobachtet worden.

Es galt bei unseren Versuchen zu klären, ob das gleiche Phänomen auch beim Vasopressin auftreten würde.

## C. Methodik

### 1. Herstellung eines Streifenpräparates

In leichter Äthernarkose wurden 11o - 28o g schwere WISTAR-Ratten beiderlei Geschlechts durch einen Schnitt in die A. carotis entblutet. Nach Eröffnung von Abdomen und Thorax legten wir die Aorta frei und präparierten ihren thorakalen und abdominalen Teil heraus. Ein durch das Aortenlumen vorgeschobener Stahldraht wurde in einem Widerlager gehalten. Das die Aorta umgebende Bindegewebe entfernten wir vorsichtig, erfaßten mit einer Pinzette das thorakale Ende der Aorta und begannen unter leichtem Zug einen ca. o,3 cm breiten und 6 - 7 cm langen Streifen zu schneiden. Dabei drehten sich Stahldraht und Aorta, so daß sich ein Helix-Streifen abrollte.

Der Schnittwinkel quer zur Gefäßachse konnte einigermaßen gleichbleibend eingehalten werden. Den Einfluß des Schnittwinkels auf die Spannungsentwicklung des Gefäßmuskelpräparates untersuchte VONDERLAGE ( 1968 ): für die Kaninchenaorta ergaben sich maximale Kontraktionsamplituden bei einem gegebenen Testreiz für einen Schnittwinkel von $0^{o}$, wobei Ab-

weichungen um 15° nicht kritisch die Spannungsentwicklung beeinflußten. Dies entspricht einem Verlauf der einzelnen Aortenfasern fast quer zur Gefäßachse.

Bei der Isolierung des Präparates und Überführung in Tyrodelösung ändern sich, vor allem bei Abkühlung, die intrazellulären Ionenkonzentrationen der Muskelfasern beträchtlich: der Kalium-Gehalt sinkt, die Natrium-Konzentration steigt ( KONOLD et al. 1969 ). Während der Präparation befand sich die Aorta in warmer Tyrodelösung. Der Zeitbedarf von der Präparatentnahme bis zum Einbringen in das Inkubationsgefäß betrug maximal etwa 3 - 4 min.

## 2. Inkubationssystem und Badflüssigkeit

Die Versuchsanordnung ist schematisch in Abb. 1 wiedergegeben. Als Inkubationsgefäß verwendeten wir ein doppelwandiges Plexiglasüberlaufgefäß mit einem Fassungsvermögen von 42 ml. Am Boden dieses Behälters wurde in einem Haken das eine Ende des Muskelpräparates fixiert, das andere Präparatende an einer Einhängevorrichtung des Dehnungsmeßstreifens befestigt. Die Zirkulation der Badflüssigkeit besorgte eine Pumpe ( Modell T 6 S, SIGMAMOTOR, Middleport,

N. Y. ) mit einer Förderleistung von etwa 5o ml/min und rascher Fingerbewegung, um die Strömungspulsationen möglichst gering zu halten. Der Zufluß erfolgte von unten in das Inkubationsgefäß. Eine am Boden angebrachte Prallplatte verhinderte den direkten Einfluß der pulsierenden Flüssigkeitsströmung auf das Streifenpräparat und stabilisierte die Nullage. Die Überlaufvorrichtung gewährleistete eine konstante Höhe des Flüssigkeitsspiegels im Inkubationsgefäß.

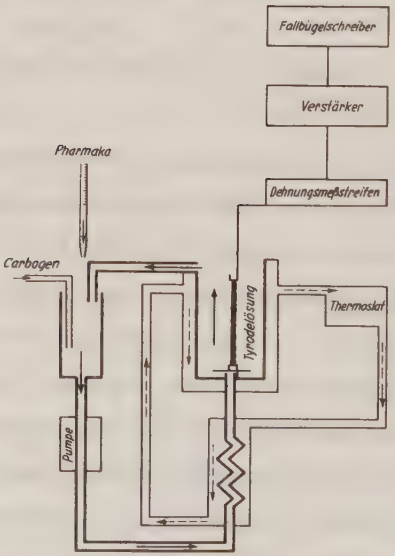


Abb. 1

Schema der Versuchsanordnung des Inkubationsgefäßes und der Registriereinrichtung für die Aufnahme von Dosis-Wirkungskurven an isolierten Aortenpräparaten.

Die Badflüssigkeit gelangte aus dem Inkubationsgefäß in ein 11 ml fassendes Vorratsgefäß, in das auch die Pharmaka pipettiert wurden. Die Durchperlung der Tyrodelösung in diesem Behälter mit Carbogen ( 95 % $O_2$ und 5 % $CO_2$ ) sicherte den konstanten pH-Wert von 7,3. Zu Kontrollzwecken konnte der pH-Wert in einer zwischengeschaltenen Durchflußküvette mittels einer Glaselektrode fortlaufend bestimmt werden.

Ein eingebauter Wärmeaustauscher und die Umspülung der Wand des Inkubationsgefäßes gewährleisteten die Konstanz der Badflüssigkeitstemperatur von 37° C; dies ist wegen der erheblichen thermoelastischen Eigenschaften des Präparates notwendig ( PEIPER et al. 1969 ).

Als Inkubationsflüssigkeit ( Gesamtvolumen 81 ml ) diente Tyrodelösung folgender Zusammensetzung:

| | | |
|---|---|---|
| NaCl | 136,85 mMol/l | 273,7o m osm |
| KCl | 2,68 " | 5,36 " |
| $CaCl_2$ | o,91 " | 2,73 " |
| $MgCl_2$ | o,49 " | 1,47 " |
| $NaHCO_3$ | 11,9o " | 23,8o " |
| $NaH_2PO_4$ | o,36 " | o,72 " |
| Glucose | 5,o5 " | 5,o5 " |
| | | 312,83 m osm |

Tab. 1

Zusammensetzung der Tyrodelösung

Die Gesamtosmolarität der Lösung betrug unter Voraussetzung einer vollständigen Dissoziation der Kristalloide 312,83 m osmol. Die Konzentration von Natrium, Kalium und Calcium in der Tyrodelösung wurden während des Versuches flammenphotometrisch kontrolliert.

### 3. Meßintrumente und Registrierung

Die Kontraktion des Präparates wurde bei fixierter Länge als isometrisch entwickelte Spannung mittels eines Dehnungsmeßstreifens bestimmt. Der Dehnungsmeßstreifen ( U gage Typ UL Shinkoh Comm. ), der bei einer Belastung von 2ooo mg eine Auslenkung von o,4 mm erfährt, übertrug die Werte über einen Verstärker Ma 19 der Fa. HELLIGE auf einen daran angeschlossenen 6-fach Fallbügelschreiber ( Fa. JOENS, Düsseldorf ).

Vor Versuchsbeginn belasteten wir jedes Streifenpräparat mit einer Vorspannung von 2ooo mg. Durch passive Dehnung des Muskels erfolgte solange eine Korrektur der Spannungsabnahme des Präparates, bis sich nach etwa einer Stunde die Nullage stabil zeigte. Der Abgleich des Brückenverstärkers erfolgte auf diesen Wert, um geringe Kontraktionen mit hoher Emp-

findlichkeit registrieren zu können.

Vor und nach Aufnahme der Dosis-Wirkungskurven wurde die Badflüssigkeit kontinuierlich erneuert, während sie beim eigentlichen Versuch rezirkulierte. Ein konstanter pH-Wert stellte sich erst etwa 1o min nach dieser Umschaltung ein.

Entsprechend der Spannungsentwicklung fand eine Registrierung im empfindlichen Meßbereich 1, bei Zunahme der Gefäßmuskelkontraktion in den Meßbereichen o,5; o,25 bzw. o,1 statt.

## 4. Benutzte Pharmaka

Zur Auslösung bzw. zur Beeinflussung der Gefäßmuskelkontraktion wurden folgende Präparate benutzt:

a. Vasopressin " Tonephin " ( HOECHST )
b. Noradrenalin-Hydrochlorid " Arterenol " ( HOECHST )
c. Phentolamin-Methansulfonat " Regitin " ( CIBA )

Die Vasopressin ( = VP )-Stammlösung enthielt 5 IE/ml, aus der eine Verdünnungsreihe 1/1o und 1/1oo mit der Tyrodelösung hergestellt und bei $4^{o}$ C aufbewahrt wurde. Die Konzentration im Inkubationssystem stieg in logarithmisch ansteigenden Stufen durch Zupipettieren der entsprechenden Vasopressin-Menge im Bereich zwischen $1o^{-5}$ bis $1o^{-2}$ IE/ml.

Beim Noradrenalin ( = NA ) setzten wir eine Verdünnungsreihe 1/1o; 1/1oo und 1/1ooo an ( Aufbewahrung ebenfalls bei $4^{o}$ C ). Die Konzentration des verwendeten Noradrenalin-Hydrochlorids ( Molekulargewicht 2o5,65 ) in der Tyrodelösung bezog sich auf Noradrenalin-Base ( Molekulargewicht 169,18 ). Die Registrierung fand im Bereich zwischen $1o^{-1o}$ und $1o^{-5}$ g NA/ml statt.

Bei jeder einzelnen Pharmakon-Zugabe warteten wir die Einstellung des stabilen Spannungsmaximums ab und gaben dann erst die nächst höhere Konzentration hinzu ( siehe auch Abb. 4 ). Das maximal pipettierte Volumen betrug o,4 ml. Innerhalb von 6 min war die Konzentration im Inkubationssystem stabil (Abb.2).

Der Konzentrationsaufbau im Sinne einer gedämpften Schwingung erklärt sich durch die Rezirkulation der momentan applizierten Substanz. Die Spannungsentwicklung des Präparates verlief jedoch so stark verzögert, daß diese periodischen Konzentrationsschwankungen nicht zur Wirkung kamen. Eine gleichmäßige Kontraktionsstärke stellte sich bei relativ geringen Konzentrationsänderungen erst 8 - 1o min nach Applikation des Vasopressins bzw. 4 - 5 min nach der des Noradrenalins ein. In dieser Zeit war der stabile Aufbau der Konzentration fast vollstän-

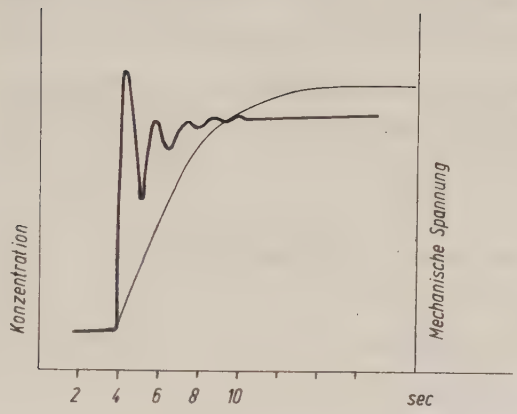


Abb. 2

Aufbau der Konzentration der zupipettierten Pharmaka im Inkubationsgefäß ( stark gezeichnete Linie ) im Vergleich zur mechanischen Spannungsentwicklung des Muskelpräparates ( dünne Linie ).

dig abgeschlossen ( Abb. 2 ).

Das Phentolamin ( = PHA ) kam unverdünnt als Einzeldosis 15 min vor Aufnahme der Dosis-Wirkungskurve in die rezirkulierende Badlösung oder wurde in anderen Versuchen der Tyrodelösung auf dem Höhepunkt der Muskelkontraktion beigegeben.

Durch langanhaltendes Spülen mit Tyrodelösung ließ sich das Phentolamin befriedigend aus Inkubationsgefäß und Muskel eliminieren. Trotzdem erhitzten wir nach Versuchsende das Inkubationssystem für ca. 2 Stunden auf 70° C unter fortlaufendem Spülen mit aqua dest.

5. Berechnung der Präparatdehnung

Für die Angabe einer definierten Faserdehnung war die Berechnung des mittleren Aortenquerschnittes notwendig. Dieser ließ sich nach PEIPER et al. ( 1969 ) sowie PÜRSCHEL et al. ( 1969 ) bestimmen als:

$$\text{Querschnitt} = \frac{\text{Feuchtgewicht ( Volumen )}}{\text{Präparatlänge}}$$

Zur Ermittlung des Feuchtgewichtes schnitten wir nach Versuchsende das Aortenpräparat zwischen den Befestigungsstellen ab, trockneten es mittels Fließpapier kurz ab und bestimmten durch mehrmaliges Wiegen das mittlere Präparatgewicht. Das so ermittelte Feuchtgewicht wurde dem Volumen der Muskelfasern gleichgesetzt.

Die Längenmessung des Muskelstreifens erfolgte während des Versuches in der Tyrodelösung des Inkubationsgefäßes bei einer Badtemperatur von 37° C und bei einer Belastung von 2000 mg. Für das ruhende Präparat ergab sich unter diesen Versuchsbedingungen:

$$\frac{\text{2ooo dyn Vorspannung}}{\text{Präparatquerschnitt}} = \frac{\text{Zugspannung in dyn}}{\text{1 mm}^2 \text{ Präp.querschn.}}$$

Der Schnittwinkel und damit die Breite des Aortenpräparates waren methodisch vorgegeben. In unseren Versuchen betrug der Präparatquerschnitt im Mittel o,292 $mm^2$ $\pm$ o,o2 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ).

Bei dem verwendeten Versuchsmaterial zeigte die Präparatdicke die größte Variabilität. Da diese Grö-

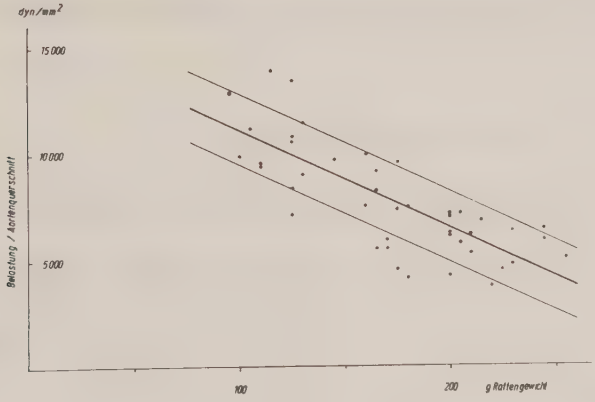


Abb. 3

Korrelation vom Körpergewicht der Versuchstiere zur Spannung pro Präparatquerschnitt bei konstanter Gesamtzugspannung.

ße sowie das Körpergewicht der Versuchstiere altersabhängig waren, korrelierten wir die bei konstanter Gesamtspannung ( 2ooo dyn ) berechnete Spannung pro Präparatquerschnitt zum Körpergewicht ( Abb. 3 ). Bei Verdoppelung des Körpergewichtes nimmt die Spannung pro Präparatquerschnitt ( dyn/$mm^2$ ) fast um die Hälfte ab. Unter den vorgegebenen Versuchsbedingungen tritt eine Spannung von 8ooo dyn/$mm^2$ bei einem Tiergewicht zwischen 13o g und 2oo g auf. Durch Änderung der Gesamtspannung ermöglicht die gefundene reziproke Beziehung auch bei einem anderen Tiergewicht den Bereich dieser optimalen Spannungsentwicklung einzustellen.

## 6. Auswertung der Versuche

Nach Einstellung einer stabilen Vorspannung des Gefäßmuskels und nach Zugabe eines Pharmakons ergaben die vom Fallbügelschreiber registrierten Werte eine Kurve, deren Amplitude der Spannungsentwicklung des Muskels entprach. Durch Eichung am Ende der Versuchsreihen ließen sich die Spannungsmaxima jeder Konzentrationsstufe von mm ( Zeigerausschlag ) in dyn ( Präparatspannungsentwicklung ) umrechnen. Damit entfielen die verschiedenen Meßbereiche, und aus der Verbindung der einzelnen Spannungsmaxima erstellte sich die Ab-

solutdarstellung der Dosis-Wirkungskurve ( = DWK ).

Um den Einfluß von Präparatunterschieden zu vermeiden und Formveränderungen des Kurvenverlaufes besser erkennen zu können, haben wir innerhalb der Dosis-Wirkungskurven das Maximum der entwickelten Zugspannung gleich 1oo % gesetzt und alle anderen Werte darauf bezogen ( Relativdarstellung ).

Eine statistische Bearbeitung der Ergebnisse war erforderlich, da die Aussage der Einzelversuche überprüft und eine allgemein gültige Aussage getroffen werden sollte.

Die Berechnung des Mittelwertes erfolgte nach der Gleichung:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Zur Ermittlung der Standardabweichung diente die Formel:

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{\sum x \cdot \sum x}{n}}{n - 1}}$$

Daraus errechnete sich der mittlere Fehler des Mittelwertes:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

Die Signifikanz zweier Mittelwerte erhielt man aus der Gleichung:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{s_{\bar{x}_1}^2 + s_{\bar{x}_2}^2}}$$

Der entsprechende Wert für p wurde unter Berücksichtigung der Zahl der Freiheitsgrade aus der Tabelle der Student-Verteilung entnommen.

Bei der Korrelations- und Regressionsanalyse bedeuten:

x = Konzentration des Pharmakons in g/ml bzw. IE/ml

y = Kontraktionsamplitude in %

r = Korrelationskoeffizient

$s_{y \cdot x}$ = Standardabweichung der Funktion

n = Zahl der verwendeten Wertpaare

p = Prüfung des Korrelations- bzw. Regressionskoeffizienten gegen Null

Die entsprechenden Formeln entnahmen wir den GEIGY - Tabellen.

## D. Ergebnisse

### I. Wirkung der Oligopeptide auf die Gefäßmuskulatur

#### 1. Dosis-Wirkungskurven von Vasopressin

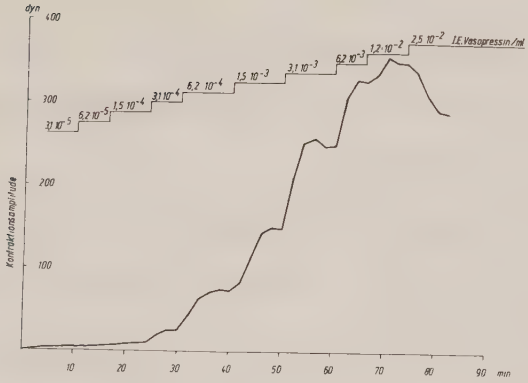


Abb. 4

Repräsentative Dosis-Wirkungskurve für Vasopressin. Eine logarithmische Steigerung der Dosis an Vasopressin führt zu dementsprechend abhängigen Kontraktionsamplituden. Nach maximaler Spannungsentwicklung ist trotz Erhöhung des Pharmakons ein Spannungsabfall zu registrieren.

Der in Abb. 4 gezeigte Versuch veranschaulicht die Vasopressin-Wirkung auf den Gefäßmuskelstreifen. Das vorgespannte Aortenpräparat wurde nach Einstellung einer stabilen Ausgangsspannung von $1,5 \cdot 10^{-5}$ IE VP/ml durch Zupipettieren von steigenden Vasopressin-Konzentrationen in das Badvolumen zur Kontraktion gebracht. Die Ausgangsdosis von $1,5 \cdot 10^{-5}$ IE VP/ml erhöhten wir logarithmisch und kumulativ bis auf $2,5 \cdot 10^{-2}$ IE VP/ml. Das Muskelpräparat beantwortete dies mit sprunghaften, dosisabhängigen Spannungsveränderungen. Bei jeder Konzentrationsstufe warteten wir die Einstellung auf ein Plateau ab, erst dann erfolgte die Zugabe der nächst höheren Pharmakondosis.

Im unteren Konzentrationsbereich war die Spannungsentwicklung gering, während ab $6,2 \cdot 10^{-4}$ IE VP/ml eine stärkere Zunahme in der Kontraktionsamplitude zu registrieren war. Eine Dosis von $1,2 \cdot 10^{-2}$ IE VP/ml führte zu einer maximalen Muskelkontraktion; bei weiterer Erhöhung des Vasopressins erfolgte eine Spannungsabnahme, was die Bildung eines Gipfels im Kurvenverlauf verursachte.

Der mittlere zeitliche Abstand zwischen zwei Vasopressin-Dosis-Gaben betrug ca. 7,5 min; der Zeitbedarf für die Aufnahme einer gesamten Dosis-Wir-

kungskurve lag - gemittelt über der gesamten Versuchsreihe - bei 75,5 ± 2,3 min.

An einem Spiralstreifen der Aorta sind zwei oder mehrere Dosis-Wirkungskurven aufgenommen worden, um vergleichbare Aussagen in der Wirkung der zu testenden Pharmaka am selben Präparat zu erhalten. Die Er-

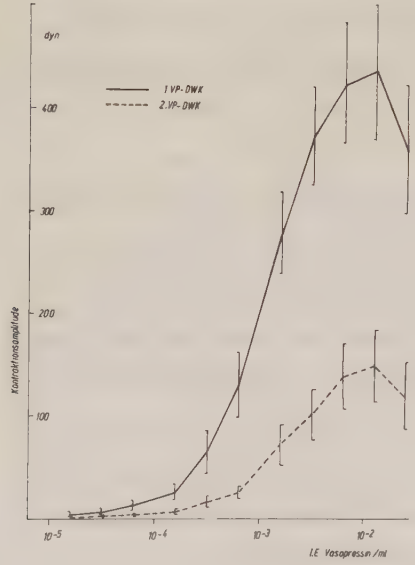


Abb. 5

Korrelation zwischen zwei DWK, die nacheinander am selben Präparat aufgezeichnet wurden: dargestellt sind die Mittelwerte und deren mittlere Abweichung von jeweils 12 DWK in Absolutdarstellung. Die zweite Kurve zeigt gegenüber der ersten einen relativ flachen Anstieg, erreicht aber den Gipfel bei der gleichen Konzentration. Die Differenz der Spannungsmaxima, als Ausdruck der Tachyphylaxie, ist hoch signifikant ( $p < 0{,}0025$ ).

gebnisse aus der ersten Versuchsreihe wurden zu einer Kurve zusammengefaßt und den Werten aus der zweiten Serie gegenübergestellt. In Abb. 5 sind die Kurven von jeweils 12 Dosis-Wirkungskurven und deren mittlere Abweichung vom Mittelwert ( $s_{\bar{x}}$ ) aus der ersten Serie und der zweiten abgebildet. Die Absolutdarstellung beider Mittelwertskurven zeigt trotz der beträchtlichen Streuung einen signifikanten Unterschied im Verlauf und in der maximalen Spannungsentwicklung ( $p < 0{,}0005$ ). Der Gipfel beider Kurven liegt jedoch gemeinsam bei der Konzentration von $1{,}2 \cdot 10^{-2}$ IE VP/ml. An dieser Stelle erreicht aber das Kontraktionsmaximum der ersten Kurve einen Wert von 439,6 dyn $\pm$ 65,1 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ) und übersteigt die maximale Kontraktionsamplitude der zweiten Kurve um 288,6 dyn. Bestimmte man über dem gesamten Kurvenverlauf bei jeder Konzentrationsstufe die Differenz zwischen beiden Kurven, so erreichten die Werte der zweiten Kurve im Mittel nur 32,0 % $\pm$ 2,5 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ) von der Kontraktionsamplitude der ersten Kurve.

Die Relativdarstellung dieser beiden Dosis-Wirkungskurven ( Abb. 6 ) gibt Aufschluß über die Formveränderungen der Kurven und läßt signifikant niedrigere Werte nur für die beiden Konzentrationen $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ und $3{,}1 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml erkennen ( $p < 0{,}05$ ).

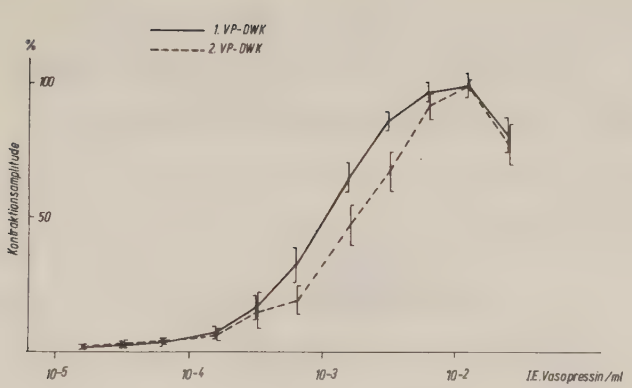


Abb. 6

Dosis-Wirkungskurven in prozentualer Angabe des Maximums der Kontraktionsamplitude: aufgezeichnet sind die Kurven aus Abb. 5 in Relativdarstellung. Ein unterschiedlicher Kurvenverlauf ist nur im mittleren Abschnitt erkennbar.

## 2. Einfluß von Phentolamin auf Form und Verlauf der Vasopressin-Dosis-Wirkungskurven

Zur Überprüfung der Auswirkung einer alpha-Rezeptorenblockade bei Vasopressin-aktivierten Präparaten führten wir die Untersuchungen nur an jeweils frischen Aortenstreifen durch, da bei Mehrfachregistrierung mit Vasopressin eine Tachyphylaxie auftrat. Um

eine abgestufte Wirkung von Phentolamin auf die Spannungsentwicklung des Muskelstreifens beobachten zu können, wurden drei verschiedene Phentolamin-Konzentrationen in die Tyrodelösung pipettiert.

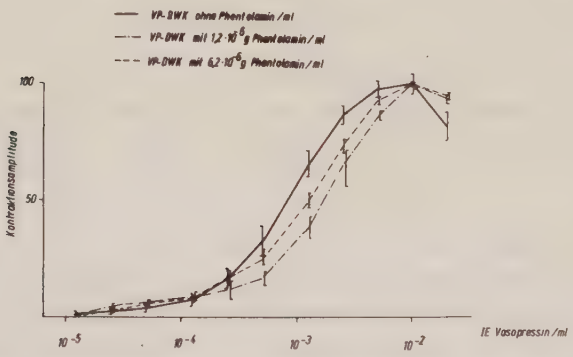


Abb. 7

Gegenüberstellung von Dosis-Wirkungskurven mit und ohne Phentolamin-Einfluß. Die DWK werden bei alpha-Rezeptorenblockade nur im Bereich von $1o^{-4}$ bis $1o^{-2}$ IE VP/ml gering rechtsverlagert.

Wie aus Abb. 7 ersichtlich, üben die verschiedenen Phentolamin-Konzentrationen nur einen geringen Einfluß auf die Form der Vasopressin-Dosis-Wirkungskurven aus. Eine konzentrationsabhängige Veränderung durch Phentolamin am Kurvenverlauf konnte nicht registriert wer-

den; die unter $1,2 \cdot 10^{-6}$ g PHA/ml aufgenommene Dosis-Wirkungskurve ist am weitesten rechtsverlagert, während bei der höheren Phentolamin-Dosis von $6,2 \cdot 10^{-6}$ g/ml die Kurve in ihrem Verlauf der Bezugskurve ohne Phentolamin-Einfluß genähert ist. Beim Vergleich der Dosis-Wirkungskurven ohne und mit Phentolamin-Wirkung zeigt sich nur im Bereich von $10^{-3}$ bis $10^{-2}$ IE VP/ml eine geringe, aber signifikante Rechtsverlagerung ( $p < 0,05$ ). Den Gipfelwert erreichen die Kurven alle bei der gleichen Vasopressin-Konzentration.

Um eine eventuelle Kontraktionsminderung durch Phentolamin zu erkennen, wurde in Tab. 2 die absolute Kontraktionsamplitude am jeweiligen Gipfel der

| IE VP/ml | g PHA/ml | Kontraktionsamplitude | |
|---|---|---|---|
| | | in dyn | in % |
| $6,2 \cdot 10^{-6}$ | --- | $185,4 \pm 34,8$ | $100,0 \pm 18,8$ |
| $6,2 \cdot 10^{-6}$ | $3,1 \cdot 10^{-6}$ | $182,6 \pm 29,7$ | $98,5 \pm 16,0$ |

Tab. 2

Kontraktionsamplitude des isolierten Gefäßmuskels bei maximaler Vasopressin-Aktivierung vor und nach alpha-Rezeptorenblockade ( n = 10; t = $37^{\circ}$ C ).

der Dosis-Wirkungskurve verglichen. Da eine Registrierung mehrerer Dosis-Wirkungskurven an einem Muskelpräparat wegen der Tachyphylaxie nicht möglich war, wählten wir Tiere aus gleicher Zucht und von ungefähr gleichem Alter und Gewicht aus, um möglichst gleichbleibendes Versuchsmaterial korrelieren zu können. Bei einer Konzentration von $6{,}2 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml ergaben sich mit und ohne Phentolamin-Zusatz praktisch gleiche Kontraktionsamplituden, die Verminderung um 1,5 % war statistisch nicht zu sichern ( Tab. 2 ).

Der Dosis-Wirkungskurve von Vasopressin ohne Phentolamin konnte im Konzentrationsbereich zwischen $6{,}2 \cdot 10^{-4}$ bis $3{,}1 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml die logarithmische Funktion

$$y = 64{,}7 \cdot \log x + 226{,}5$$

mit einer $ED_{50}$ von $1{,}56 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml approximiert werden. Die Standardabweichung der Funktion ( $s_{y \cdot x}$ ) betrug 22,7; der Korrelationskoeffizient ließ sich mit 0,64 bestimmen, als p konnte ein Wert $< 0{,}001$ angegeben werden ( n = 36 ). Bei Steigerung der Vasopressin-Konzentration ( y ) um eine Zehnerpotenz ergab sich eine Zunahme der Kontraktionsamplitude ( x ) um 64,7 % $\pm$ 13,2 ( $\bar{x} \pm s_x$ ).

Nach Phentolamin-Zugabe lag der logarithmische Be-

reich zwischen $6,2 \cdot 10^{-4}$ und $6,2 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml. Aus diesem Abschnitt war folgende Funktion aufstellbar:

$$y = 66,8 \cdot \log x + 237,5$$

Die $ED_{50}$ lag hier bei $1,87 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml; die übrigen Werte ergaben: $s_{y \cdot x} = 13,0$; $r = 0,89$; $p < 0,001$ und $n = 56$. Infolge der erheblichen Streuung der Einzelwerte ließ sich für die beiden berechneten Geraden weder eine unterschiedliche Steilheit, noch eine Parallelverschiebung statistisch sichern.

## II. Wirkung von Noradrenalin auf die Gefäßmuskulatur

### 1. Dosis-Wirkungskurven von Noradrenalin

Bei den Versuchen mit Noradrenalin entsprachen Präparatvorspannung, Temperatur der Badlösung sowie alle anderen Versuchsanordnungen der Registrierung von Vasopressin-Dosis-Wirkungskurven. Der Konzentrationsbereich erstreckte sich zwischen $10^{-10}$ und $10^{-5}$ g NA/ml. Zuerst wurden Dosis-Wirkungskurven ohne Blockade der alpha-Rezeptoren durchgeführt.

Der mittlere Zeitbedarf zwischen zwei Noradre-

nalin-Zugaben in die Tyrode-Badlösung betrug 1,7 min $\pm$ 0,07 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ). Im höheren Konzentrationsbereich war eine längere Zeit notwendig, um die Gefäßmuskulatur zur maximalen Kontraktion zu aktivieren. Für die Registrierung einer gesamten Dosis-Wirkungskurve benötigten wir durchschnittlich 25,5 min $\pm$ 1,02 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ).

Im Gegensatz zum Vasopressin konnten hier bei wiederholter Registrierung am selben Aortenpräparat mehrere Dosis-Wirkungskurven ohne wesentliche Veränderungen im Kurvenverlauf aufgenommen werden. Daher war es auch möglich, in dieser Versuchsreihe die Phentolamin-Wirkung an jeweils gleichen Präparaten zu prüfen.

Die Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve nimmt einen S-förmigen Verlauf ( Abb. 8 ). Sie beginnt mit einer Schwellenkonzentration $< 10^{-9}$ g NA/ml und hat eine Gipfelkonzentration von $2,5 \cdot 10^{-6}$ g NA/ml. Nach Erreichen dieses Gipfels ist trotz Erhöhung der Noradrenalin-Konzentration eine Minderung der Kontraktionsamplitude zu verzeichnen. Im Konzentrationsbereich zwischen $1,2 \cdot 10^{-8}$ und $6,2 \cdot 10^{-7}$ g NA/ml wurde der Dosis-Wirkungskurve eine logarithmische Funktion approximiert ( Tab. 3 ) mit einer Steigung von 41,6 % $\pm$ 3,1 ( $\bar{x} \pm s_x$ ). Die $ED_{50}$

ergab eine Noradrenalin-Konzentration von 6,6 · $10^{-8}$ g/ml.

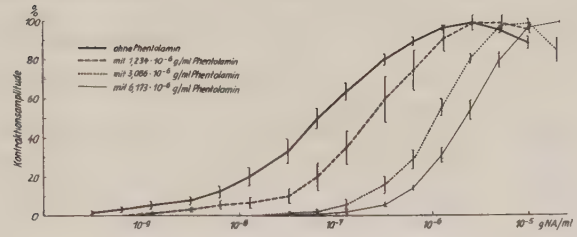


Abb. 8

Der Einfluß von Phentolamin auf die Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve: mit Erhöhung der Phentolamin-Konzentration treten eine Rechtsverlagerung von Gipfelkonzentration und $ED_{50}$ sowie Versteilerung der Kurven auf.

Der in Abb. 8 gezeigten Dosis-Wirkungskurve ohne Phentolamin liegen Untersuchungen an 18 Präparaten zugrunde, an denen anschließend Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurven mit unterschiedlichen Phentolamin-Konzentrationen durchgeführt wurden. Da die Kontrollkurven keinen statistisch faßbaren Unterschied

in der Präparatspannung/Querschnitt als auch im Kurvenverlauf zeigten, konnten sie als Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve ohne Phentolamin-Zusatz zusammengefaßt dargestellt werden.

| Phentolamin $\cdot 10^{-6}$ g/ml | Abszissenbereich d. DWK $\cdot 10^{-8}$ g NA/ml | Funktion x= Konzentration in g/ml y= Kontraktionsamplitude in % |
|---|---|---|
| o | 1,24 - 62 | y= 41,6 ·log x + 348,6 |
| 1,2 | 6,2 - 124 | y= 57,1 ·log x + 429,7 |
| 3,1 | 31 - 248 | y= 71,7 ·log x + 478,8 |
| 6,2 | 124 - 496 | y= 81,7 ·log x + 513,5 |

| Phentolamin $\cdot 10^{-6}$ g/ml | Steigung d. Kurve in % | $ED_{50} \cdot 10^{-8}$ g NA/ml | $s_{y.x}$ % | Gipfelkonzentration $\cdot 10^{-8}$ gNA/ml |
|---|---|---|---|---|
| o | 41,6 ± 3,1 | 6,6 | 18,8 | 248 |
| 1,2 | 57,1 ± 8,7 | 22,4 | 24,2 | 496 |
| 3,1 | 71,7 ± 6,o | 1o5,o | 1o,6 | 992 |
| 6,2 | 81,7 ±1o,2 | 212,o | 8,7 | 198o |

Tab. 3

An Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurven vor und nach Blockade der alpha-Rezeptoren werden im logarithmischen Abschnitt der Kurve die Funktion und die Steigung der DWK und außerdem die Standardabweichung der Funktion bestimmt. Ein Vergleich dieser Werte verdeutlicht die Rechtsverlagerung der DWK bei Erhöhung der Phentolamin-Dosis.

## 2. Einfluß von Phentolamin auf Form und Verlauf von Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurven

Das Phentolamin erzielte bei der Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve eine Änderung des Kurvenverlaufes. Die Zugabe von 1,2; 3,1 bzw. 6,2 · $10^{-6}$ g PHA/ml in die Badlösung erfolgte 15 min vor Aufnahme einer Dosis-Wirkungskurve. Konzentrationsabhängig zum Phentolamin fand eine Verlagerung der Kurven in höhere Noradrenalin-Bereiche statt ( Abb. 8 und Tab. 3 ). Diese Kurvenänderung äußerte sich auch in einer Verschiebung des logarithmischen Kurvenabschnittes zu höheren Noradrenalin-Konzentrationen, in einer Zunahme der Kurvensteilheit und in einer Steigerung der Gipfelkonzentrationen. Wie aus Tab. 3 zu entnehmen ist, wurden durch Phentolamin-Wirkung die Schwellenkonzentration über zwei Zehnerpotenzen, die $ED_{50}$ um den Faktor 32 zu höheren Noradrenalin-Werten und die Kurvengipfel von 248 bis auf 1980 · $10^{-8}$ g NA/ml angehoben. Außerdem war eine Zunahme in der Steilheit der Dosis-Wirkungskurve von 41,6 % über 57,1 % und 71,7 % ( $p < 0{,}001$ ) bis auf 81,7 % ( $p < 0{,}005$ ) entsprechend der Phentolamin-Applikationen zu verzeichnen.

Wurden die alpha-Rezeptoren nicht vor Aufzeichnung einer Dosis-Wirkungskurve, sondern auf dem Höhepunkt der durch 3,1 · $10^{-6}$ g NA/ml induzierten Muskelspannung blockiert, so sank die Kontraktionsamplitude bereits durch 1,2 · $10^{-6}$ g PHA/ml innerhalb 3o min bis auf 1o % der Ausgangsspannung ab ( Abb. 9 ). Die Spannungsverminderung verlief nur

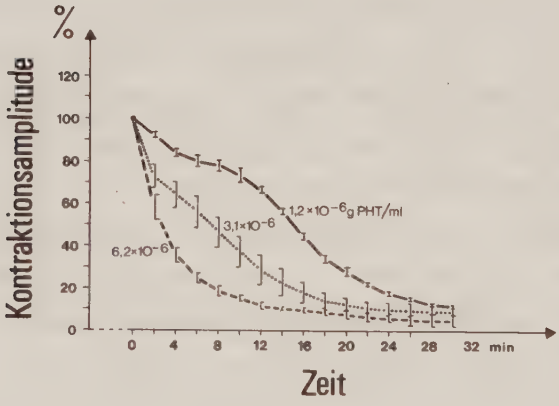


Abb. 9

Blockade der alpha-Rezeptoren bei maximaler Kontraktion der Präparate durch 3,1 · $10^{-6}$ g NA/ml. Bei einer Konzentration von 1,2 · $10^{-6}$ g PHA/ml kommt es bereits nach 3o min zu einem Spannungsabfall bis auf 1o % des Ausgangswertes.

unter $1,2 \cdot 10^{-6}$ g PHA/ml zwischen 8 - 12 min verzögert und wurde durch höhere Phentolamin-Konzentrationen beschleunigt. Die Restspannung nach 30 min zeigte zwischen 1,2 und $6,2 \cdot 10^{-6}$ g PHA/ml keine Konzentrationsabhängigkeit. Die alpha-Rezeptorenblockade war in jedem Falle durch eine erneute Zugabe von Noradrenalin zu durchbrechen.

## E. Diskussion

Die Aorta, die zum elastischen Typ der Arterien gehört, hat in ihren drei Schichten einen unterschiedlichen Gehalt an elastischen, kollagenen und muskulären Faserelementen ( WETTERER 197o ). Da die elastischen Fasern eine verschiedene Ausgangslänge besitzen, sind bei geringer Präparatdehnung nur die kürzeren Elemente gespannt, während die längeren noch lose gewellt sind.

Um eine definitive Aussage über den Dehnungszustand eines Gefäßmuskelstreifens machen zu können, müssen Vorspannung und Präparatquerschnitt berücksichtigt werden. In welchem Maße dabei die Muskelfasern eine Dehnung erfahren, hängt vom Gehalt an kollagenen und elastischen Fasern ab. BRECHT et al. ( 1964 ) gaben bei dem Untersuchungsmaterial ( A. facialis und A. mesenterica von Rindern ) eine Vorspannung von 9ooo mg/mm$^2$ an; mit derselben Vorspannung dehnten SOMLYO et al. ( 1965 ) die Aortenstreifen von Hunden. Bei unseren Versuchen wurden die Präparate mit 2ooo mg belastet, was auch den Versuchen anderer Autoren entsprach ( BARTELSTONE und NASMYTH 1965; VONDERLAGE 1968; FURCHGOTT 1963 u. a. ). Aus Abb. 3 ist zu entnehmen, daß trotz standardisierter

Bedingungen in der Spannung des Muskelpräparates Unterschiede auftreten können. Eine Dehnung von 7000 - 8000 dyn/mm$^2$ entspricht größenordnungsgemäß dem Dehnungszustand der arteriellen Gefäße in situ ( BRECHT et al. 1964; SOMLYO et al. 1965; PORSCHEL et al. 1969 ). Welchen Einfluß Temperatur und Vorspannung auf die Form der Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve nehmen, haben PEIPER et al. ( 1969 ) festgestellt: die Steilheit der Kurve und die Gipfelkonzentration wurden durch eine unterschiedliche Dehnung der Faserelemente beeinträchtigt.

Bei standardisierten Versuchsbedingungen verwendeten wir als Muskelpräparat isolierte Aortenstreifen von Ratten. Es sollte die Aktivierung des kontraktilen Apparates durch Catecholamine und Oligopeptide und die Wirkung dieser Substanzen bei Blockade der alpha-Rezeptoren durch Phentolamin untersucht werden. Als Testsubstanz wählten wir aus der Gruppe der Catecholamine Noradrenalin, das im Organismus bei neurogener Reizung die alleinige Transmittersubstanz ist ( FOLKOW und UVNÄS 1948 ). Durch gleichzeitige Aktivierung zahlreicher Neurone, durch weitverzweigte Aufsplitterung der Nervenfasern und durch eine multiterminale Freisetzung findet die Innervation von ganzen Zellgruppen der Gefäßmuskulatur

statt. Die im Spalt auftretende Noradrenalin-Konzentration wurde von FOLKOW et al. (1967 ) und LJUNG ( 1968 ) mit etwa $1o^{-6}$ bzw. $1o^{-5}$ g NA/ml angegeben. Damit Noradrenalin an der Muskelzelle wirksam werden kann, muß es durch eine Barriere diffundieren ( BEVAN 196o ), die zwischen dem extrazellulären Raum und dem eigentlichen Wirkort liegt.

Durch steigende Noradrenalin-Konzentrationen brachten wir das isolierte Aortenpräparat zur Kontraktion, wobei der Bereich um $1o^{-9}$ der humoralen Noradrenalin-Konzentration ( KLENSCH 1966 ) und um $1o^{-5}$ g NA/ml der neurogen freigesetzten Transmitter-Konzentration im Spalt entsprach. Als Versuchsergebnisse erhielten wir Dosis-Wirkungskurven, die einen S-förmigen Verlauf nahmen und in einem bestimmten Konzentrationsbereich eine logarithmische Beziehung zwischen getesteter Pharmakon-Dosis und Muskelkontraktion aufwiesen ( Abb. 8 ).

Vergleiche mit Dosis-Wirkungskurven, die bei isometrischer und isotoner Spannungsentwicklung registriert wurden, zeigten keinen grundlegenden Unterschied in Form und Kurvenverlauf ( WENDE und PEIPER 1969 ). Auch die Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurven an Widerstandsgefäßen der Skeletmuskelstrombahn aufgenommen ( PEIPER et al. 1966 ) entsprachen prinzi-

piell den Ergebnissen an isolierten Arterienpräparaten.

Nach Elimination von Noradrenalin aus der Badlösung konnte die Aufzeichnung einer Dosis-Wirkungskurve am selben Präparat wiederholt werden, ohne daß bei dieser Mehrfachregistrierung signifikant unterschiedliche Kurven zu verzeichnen waren.

Nach AHLQUIST ( 1948 ) wird die Reaktion des Gefäßmuskels auf die Aktivierung adrenerger alpha-Rezeptoren zurückgeführt. Eine selektive Ausschaltung der alpha-Rezeptoren ist durch Sekale-Alkaloide oder durch synthetisch hergestellte Sympatholytica möglich. Aus dieser Gruppe wählten wir Phentolamin, das im Gegensatz zum Phenoxybenzamin eine reversible Rezeptorblockade ermöglichte( FURCHGOTT 1967 ).

Unter Phentolamin-Einfluß traten in unseren Versuchen, entsprechend der unterschiedlichen Phentolamin-Konzentrationen, eine Rechtsverlagerung der Dosis-Wirkungskurven, eine Zunahme der Kurvensteilheit und eine Verschiebung der Gipfelkonzentration zu höheren Noradrenalin-Werten ein ( Tab. 3 ). Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten LANGER und TRENDELENBURG ( 1969 ) an der Nickhaut der Katze, was im Sinne eines kompetitiven Antagonismus gedeutet wurde.

Die Auswirkung der Rezeptorblockade in unseren Versuchen war jedoch davon abhängig, zu welchem Zeitpunkt sie erfolgte. Nach Zugabe von $6{,}2 \cdot 10^{-6}$ g PHA/ml 15 min vor Aufzeichnung der Dosis-Wirkungskurve von Noradrenalin ( Abb. 8 ) wies das Präparat im Konzentrationsbereich von $1{,}2 \cdot 10^{-6}$ g NA/ml eine deutliche Kontraktion von 31,5 % auf. Führten wir die Rezeptorenblockade auf dem Höhepunkt der durch $1{,}2 \cdot 10^{-6}$ g NA/ml ausgelösten Kontraktion durch ( Abb. 9 ), so zeigte sich ein fast vollständiger Spannungsabfall. Anschließend konnte durch Zugabe von Noradrenalin diese Rezeptorenblockade wieder aufgehoben werden. Bei BRICK ( 1967 ) war durch hohe Noradrenalin-Dosen eine Phentolamin-bewirkte Blockade gleichfalls zu durchbrechen. In Versuchen an isolierten Portalvenen fanden HUGHES and VANE ( 1967 ) durch eine Phentolamin-Konzentration von $10^{-7}$ bis $5 \cdot 10^{-6}$ g/ml eine Senkung der adrenerg ausgelösten Kontraktion um ca. 50 %.

Offenbar ist die Rezeptorenblockade bei aktiviertem alpha-Rezeptor stärker wirksam: für eine gegebene Noradrenalin-Konzentration ist in dem von uns untersuchten Konzentrationsbereich die entwickelte Spannung geringer, wenn die Phentolamin-Zugabe nicht vor Aufnahme der Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve,

sondern bei maximal aktiviertem Präparat gegeben wurde. Eine Deutung dieses Befundes lassen die bisher vorliegenden Untersuchungen jedoch nicht zu.

Neben Catecholaminen bewirken auch einige Oligopeptide an der Gefäßmuskulatur eine Vasokonstriktion. Aus dieser Gruppe wählten wir das Oktapeptid Vasopressin, das im Organismus im Hypothalamus gebildet wird und als Neurosekret über die Hypophyse ins Blut gelangt. Der Plasmaspiegel beim Menschen wird mit etwa o,2 bis o,4 · $1o^{-6}$ IE VP/ml angegeben ( SCRIBA und SCHWARZ 197o ). An der Gefäßmuskulatur errechneten SILVA und ROSENBERG ( 1969 ) eine Vasopressin-Konzentration von 2 bis 32,8 · $1o^{-7}$ IE/ml, die aber zu gering ist, um Gefäßmuskelkontraktionen auslösen zu können.

An isolierten Aortenpräparaten führten wir, in gleicher Weise wie beim Noradrenalin, Dosis-Wirkungskurven mit Vasopressin durch. Der Kurvenverlauf stimmt prinzipiell mit den Ergebnissen von SOMLYO et al. ( 1967 ) an isolierten A. pulmonalis-Präparaten des Huhnes überein, ist jedoch um eine Zehnerpotenz in den Bereich niedrigerer Vasopressin-Konzentrationen verschoben.

In unseren Versuchen ( Abb. 5 ) fand sich bei wiederholter Aufzeichnung von Vasopressin-Dosis-Wirkungs-

kurven eine deutliche Wirkungsminderung ( = Tachyphylaxie ), die im Mittel über dem gesamten Kurvenverlauf 32 % der initialen Muskelreaktion ausmachte. Dies entsprach der von WALTER and BASSENGE ( 1969 ) angegebenen Tachyphylaxie von 26,7 % bei wiederholter Angiotensin-Gabe. Andere Autoren ( KHAIRALLAH et al. 1966; BOHR and UCHIDA 1967 u. a. ) beobachteten ebenfalls für das Oligopeptid Angiotensin an isolierten Gefäßen diese Reaktion, während LOUIS and JERUMS ( 1968 ) an der Strombahn in situ dasselbe Phänomen fanden.

Bei der Blockade der alpha-Rezeptoren durch Phentolamin konnte bei der Vasopressin-Dosis-Wirkungskurve keine wesentliche Änderung im Kurvenverlauf oder in der Kontraktionsamplitude registriert werden ( Abb. 7 ).Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten SHIBATA and CARRIER ( 1967 ), GULATI et al. ( 1968 ) und WALTER and BASSENGE ( 1969 ) bei Angiotensin-induzierter Muskelreaktion. Die Aktivierung des Gefäßmuskels durch Oligopeptide erfolgt demnach nicht über eine Freisetzung von Noradrenalin und ohne Beteiligung der alpha-Rezeptoren.

Vergleicht man die $ED_{50}$ ( = $1{,}6 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml ) der Vasopressin-Dosis-Wirkungskurve ohne Phentolamin mit der berechneten $ED_{50}$ ( = $1{,}87 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml )

unter Phentolamin-Einfluß, so kann kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Im Gegensatz dazu stehen die Befunde bei der adrenergen Muskelaktivierung. Bei der Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve ohne Phentolamin ließ sich die $ED_{50}$ mit $6{,}6 \cdot 10^{-8}$ g NA/ml bestimmen. Unter verschiedenen Phentolamin-Konzentrationen trat eine Verlagerung der Kurven in höhere Noradrenalin-Bereiche ein, wobei gleichzeitig eine Zunahme der Kurvensteilheit und der $ED_{50}$ erfolgte ( Abb. 8 und Tab. 3 ).

Ein direkter Vergleich der Dosis-Wirkungskurven von Vasopressin ( Abb. 7 ) und Noradrenalin ( Abb. 8 ) war durch die Relativdarstellung möglich. Den mittleren Abschnitten der Kurven ließen sich logarithmische Funktionen approximieren. Bei Steigerung der Konzentration um eine Zehnerpotenz ergab sich für Noradrenalin eine Kontraktionsamplitude von 42 %, für Vasopressin von 65 %. Die Gipfelkonzentrationen lagen jeweils bei $2{,}5 \cdot 10^{-6}$ g NA/ml und bei $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ IE VP/ml. Danach kam es trotz Erhöhung der Testsubstanzen zu einem Spannungsabfall. Aus den Abbildungen 7 und 8 war weiterhin zu entnehmen, daß die Blockade der alpha-Rezeptoren nur die Spannungsentwicklung nach Noradrenalin, nicht aber nach Vasopressin beeinflußte.

Die Aufhebung der adrenergen Aktivierung könnte

durch Verhinderung des Noradrenalin-Einstromes in die Muskelzelle oder durch Blockade der intrazellulären Wirkung von Noradrenalin erfolgen.

Vasopressin dagegen muß über andere Aktivierungsmechanismen die Gefäßmuskulatur zur Kontraktion bringen.

## F. Zusammenfassung

Isolierte Spiralstreifen von Rattenaorten werden durch Noradrenalin- bzw. Vasopressin-Zusatz in die Tyrodelösung zur Kontraktion gebracht:

1. Die Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurven zeigen einen S-förmigen Verlauf und haben im mittleren Konzentrationsbereich eine logarithmische Beziehung zwischen Pharmakon-Dosis und Muskelreaktion. Die $ED_{50}$ läßt sich mit $6{,}6 \cdot 10^{-8}$ g NA/ml berechnen.

2. Unter alpha-Rezeptorenblockade mit Phentolamin treten, entsprechend unterschiedlicher Phentolamin-Konzentrationen, eine Rechtsverlagerung der Dosis-Wirkungskurven, eine Zunahme der Kurvensteilheit und eine Verschiebung der Gipfelkonzentrationen ein.

3. Bei Applikation von Phentolamin vor Aufzeichnung der Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve resultiert im Konzentrationsbereich von $1{,}2 \cdot 10^{-6}$ g NA/ml eine Spannungsentwicklung von 31,5 %. Erfolgt die Blockade bei maximal adrenerg aktiviertem Muskel, so tritt unabhängig von der Phentolamin-Konzentration, im selben Konzentrationsbereich von $1{,}2 \cdot 10^{-6}$ g NA/ml ein fast vollständiger Spannungsabfall ein.

4. Die Vasopressin-Dosis-Wirkungskurven nehmen ebenfalls eine S-förmigen Verlauf und haben eine $ED_{50}$ von $1{,}6 \cdot 10^{-3}$ IE VP/ml.

5. Bei Mehrfachregistrierung mit Vasopressin tritt Tachyphylaxie auf, wobei die Kontraktionsminderung der zweiten Kurve im Mittel 32 % der initialen Spannungsentwicklung beträgt.

6. Durch Phentolamin kann die Vasopressin-Dosis-Wirkungskurve weder im Kurvenverlauf noch in der Kontraktionsamplitude signifikant verändert werden.

Diese Befunde sprechen dafür, daß Noradrenalin die Gefäßmuskulatur über andere Aktivierungsmechanismen zur Kontraktion bringt als Vasopressin.

Herrn Professor Dr. U. P e i p e r möchte ich hiermit besonders danken für die Überlassung des Themas und die stets großzügige Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. E. B a u e r e i s e n möchte ich für die mir am Physiologischen Institut gebotene Arbeitsmöglichkeit meinen besonderen Dank aussprechen.

# Literatur


AHLQUIST R.P. — A study of the adrenotropic receptors. Amer.J.Physiol. 153, 586 - 600 (1948)

BARTELSTONE H.J. and NASMYTH P.A. — Vasopressin potentiation of catecholamine actions on dog, cat and rat aortic strips. Amer.J.Physiol. 208, 754 (1965)

BEVAN J.A. — The use of the rabbit aorta strip in the analysis of the mode of action of l-epinephrine on vascular smooth muscle. J.Pharmacol.exp.Ther. 129, 417 - 427 (1960)

BOHR D.F. und UCHIDA E. — Individualities of vascular smooth muscles in response to angiotensin. Circulat.Res. 20 - 21, Suppl. 2, 135 - 143 (1967)

BRECHT K., ESTADA J.A. und GÖTZ A. — Zur Beeinflussung der Gefäßmotorik durch Ca- und K-Ionen. Pflügers Arch.ges.Physiol. 279, 330 -340 (1964)

CUTHBERG A.W. und SUTTER M.C. — The effects of drugs on the relation between the action potential discharge and tension in a mammalian vein. Brit.J.Pharmacol. 25, 592 - 601 (1965)

FOLKOW B. and UVNÄS B. — The chemical transmission of vasoconstrictor nerve impulses to the hind limbs and splanchnic region of the cat. Acta physiol.scand. 15, 365 (1948)

FOLKOW B., HÄGGENDAL J. and LISANDER B. — Extent of release and elimination of noradrenaline at peripheral adrenergic nerve terminals. Acta physiol.scand. 72, Suppl. 307, 1 - 38 (1967)

GULATI O.D. PARIKH H.M. and UMAR M.S. — Receptors for noradrenaline and histamine in the rabbit's posterior vena cava. Brit.J.Pharmacol. 32, 87 - 95 (1968)

HINKE J.A.M., WILSON M.C. and BURNHAM S.C. — Calcium and the contractility of arterial smooth muscle. Amer.J.Physiol. 206, 211 - 215 (1964)

HIRAOKA M., JAMAGISHI S. and SANO T. — Role of calcium ions in the contraction of vascular smooth muscle. Amer.J.Physiol. 214, 1084 - 1089 (1968)

HUGHES J. and VANE J.R. — An analysis of response of the isolated portal vein of the rabbit to electrical stimulation and to drugs. Brit.J.Pharmacol. and Chemother. 30, 46 - 66 (1967)

JOHANSSON B., JONSSON O., AXELROD J. and WAHLSTRÖM B.W. — Electrical and mechanical characteristics of vascular smooth muscle response to norepinephrine and isoproterenol. Circulat.Res. 21, 619 - 633 (1967)

KEATINGE W.R. — Electrical and mechanical responses of vascular muscle to vasodilator agents and vasoactive polypeptides. Circulat.Res. 18, 641 (1966)

KHAIRALLAH P.H., PAGE I.H., BUMPUS F.M. and TÜRKER R.A. — Angiotensin tachyphylaxis and its removal. Circulat.Res. 19, 247 - 254 (1966)

KLENSCH H. — Der basale Noradrenalin-Spiegel im peripheren venösen Blut des Menschen. Pflügers Arch. 290, 218 (1966)

KONOLD P., GEBERT G., NGUYEN-DUONG H. und BRECHT K. — Der Einfluß von Milieuänderung, Temperatur und Präparation auf den Ionengehalt und die Kalium-Dilatation muskulärer Arterien in vitro. Pflügers Arch. 310, 86 - 94 (1969)

LANGER S.Z. und TRENDELENBURG U. — The effect of a saturable uptake mechanism on the slopes of dose-response curves for sympathomimetic amines and on the shifts of dose-response curves produced by a competitive antagonist. J.Pharmacol.exp.Ther. 167, 117 - 142 (1969)

LJUNG B. — Use of partial alpha-receptor blockade for estimation of transmitter concentration at vasoconstrictor nerve endings. Acta physiol.scand. 73, 6 A (1968)

LOUIS W.J. and JERUMS G. — Tachyphylaxis to alpha- and beta-angiotensin in dogs perfused with Ringer's solution or blood. Circulat.Res. 22, 75 - 82 (1968)

MC NEILL R.J., STARK R.D. and GREENWAY C.V. — Intestinal vasoconstriction after haemorrhage: role of vasopressin and angiotensin. Amer.J.Physiol. 219, 1342 - 1347 (1970)

MURPHY R.A., BOHR D.F. and NEWMANN D.L. — Arterial actomyosin: Mg, Ca and ATP ion dependencies for ATPase activity. Amer.J.Physiol. 217, 666 - 673 (1969)

PEIPER U., OHNHAUS E.E. und BRETTSCHNEIDER H. — Kontraktionsablauf der Muskulatur der Widerstandsgefäße in situ (Skelelmuskelstrombahn) bei Variation der intravasalen Noradrenalin-Konzentration. Pflügers Arch. 290, 362 - 375 (1966)

PEIPER U., WENDE W. und WULLSTEIN H.K. — Der Einfluß von Temperatur, Vorspannung und Propranolol auf die Noradrenalin-Wirkung am isolierten Gefäßstreifen der Rattenaorta. Pflügers Arch. 305, 167 - 176 (1969)

PÜRSCHEL S., REICHEL H. und VONDERLAGE M. — Vergleichende Untersuchungen zur statistischen und dynamischen Wanddehnbarkeit von vena cava und Aorta des Kaninchens. Pflügers Arch. 306, 232 - 246 (1969)

SCRIBA P.C. und SCHWARZ K. In: Lehrbuch der klinischen Pathophysiologie von Siegenthaler W. G.Thieme Vrlg. 255, (1970)

SHIBATA S. und CARRIER O. Antagonizing action of chlorpromazine, dibenamine and phenoxybenzamine on potassium-induced contraction. Canad.J.Physiol.Pharmacol. 45, 587 - 596 (1967)

SILVA M.R. und ROSENBERG M. The release of vasopressin in response to haemorrhage and its role in the mechanism of blood pressure regulation. J.Physiol.(Lond.) 202, 535 - 557 (1969)

SOMLYO A.V., SANDBERG R.J. and SOMLYO A.P. Pharmacologically heterogeneous smooth muscle cell distribution in blood vessels. J.Pharmacol.exp.Ther. 149, 106 - 112 (1965)

SOMLYO A.P., SOMLYO A.V. and WOO C.Y. Neurohypophysial peptide interaction with magnesium in avian vascular smooth muscle. J.Physiol. 192, 657 - 668 (1967)

VONDERLAGE M. Untersuchungen über die mechanischen Eigenschaften von Streifenpräparaten verschiedener Schnittrichtung aus der Aorta abdominalis der Kaninchen. Pflügers Arch. 301, 320 - 328 (1968)

WALTER P. and BASSENGE E. — Effect of angiotensin on vascular smooth muscle. Pflügers Arch. 307, 70 - 82 (1969)

WAUGH W.H. — Adrenergic stimulation of depolarized arterial muscle. Circul.Res. 11, 264 - 276 (1962)

WENDE W. und PEIPER U. — Die Noradrenalin-Wirkung am Gefäßmuskel in vivo und in vitro bei Variation des extrazellulären Ionenmilieus. Pflügers Arch. 311, 179 - 194 (1969)

WETTERER E. — In: Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie von Keidel W.D. G.Thieme Vrlg. 108, (1970)

# Lebenslauf

Am 17. April 1941 wurde ich in Berlin als Sohn des Oberamtsrates i.R. Paul Glaser und seiner Ehefrau Hilde geb. Palm geboren.

Im Jahr 1966 heiratete ich Diethild Glaser geb. Gräf und habe seit Januar 1968 einen Sohn Thomas und seit Februar 1971 eine Tochter Monika.

1945 evakuierten meine Eltern von Berlin nach Mudau/Odenwald, wo ich 1947 eingeschult wurde und 1951 an das Burghardt-Gymnasium in Buchen/Odenwald überwechselte.

Wegen beruflicher Veränderungen meines Vaters zogen wir 1955 nach Würzburg. Dort besuchte ich das Deutsche Gymnasium und beendete diese Ausbildung 1961 mit dem Abitur.

Anschließend leistete ich den Wehrdienst ab und schied im September 1963 als Leutnant d.R. aus der Bundeswehr.

Im Oktober des gleichen Jahres immatrikulierte ich mich für das Fach Medizin an der Universität zu Würzburg. Hier legte ich die Naturwissenschaftliche Prüfung und im März 1967 die Ärztliche Vorprüfung ab. Während der klinischen Semester war ich als wissenschaftliche Hilfskraft am Physiologischen Institut tätig. In dieser Zeit wurde mir Gelegenheit geboten, als Doktorand bei Prof. Dr. U. Peiper die vorliegende Arbeit anzufertigen. Im Sommersemester 197o legte ich an der Würzburger Universität das Staatsexamen ab.

Als Medizinalassistent war ich zur chirurgischen Ausbildung im Juliusspital Würzburg, während ich die medizinische Ausbildung an einem Sanatorium in Bad Kissingen absolvierte. Im Herbst 1971 wurde mir die Approbation erteilt, so daß ich zur Zeit als Assistenzarzt an diesem Sanatorium tätig bin.

Bernd Glaser

Schnelldruck-Böhler, 87 Würzburg, Seilerstr. 10